

Presentasjon av prosjektet “*Cryptosporidium* og *Giardia* i drikkevasskjelder i Noreg”

Av Bjørn Gjerde

Bjørn Gjerde er professor i parasittologi ved Seksjon for parasittologi, Institutt for farmakologi, mikrobiologi og næringsmiddelhygiene, Noregs veterinærhøgskole

Innlegg på Fagtreff 12. oktober 1998

Innleiing

Dei to eincella tarmparasittane *Cryptosporidium parvum* og *Giardia intestinalis* har dei siste 15 åra vore årsak til ei rekkje større og mindre vassborne utbrot av tarmsjukdom hos menneske i vestlege industriland, særleg i Nord-Amerika og Storbritannia (sjå oversiktsartikkel av Gjerde (1998) og artikkel av L. Robertson i dette nr. av Vann). Begge desse parasittane danner miljøresistente stadium (respektive oocyster og cyster), som kan overleva i veker til månader i vatn. Desse stadia blir ikkje inaktiverte slik som bakteriar og virus ved vanleg desinfisering av drikkevatt ved klorering, ozonering eller UV-stråling. Dei blir i liten grad haldne tilbake ved rask sandfiltrering, og heller ikkje fullreinsing av vatnet greier å fjerna alle parasittane. *Cryptosporidium*-oocyster og *Giardia*-cyster kan

altså i stor grad passera levande gjennom vassverka, men smitte via drikkevatt kan også skuldast innsig av parasittane (frå kloakk) på distribusjonsnettet.

Cryptosporidium parvum er ein zoonotisk parasitt, som kan førekoma både hos menneske og mange arter av pattedyr. Blant husdyra er denne parasitten vanlegast hos spedkalv. Når det gjeld *Giardia intestinalis*, manglar definitive prov på at denne arta er zoonotisk, men morfologisk identiske parasittar førekjem hos mange pattedyr, og somme av desse “artene” eller variantane ser ut til å kunna smitta menneske. *Cryptosporidium*-oocyster og *Giardia*-cyster i drikkevatt kan såleis stamma frå både tamme og ville pattedyr og menneske. Parasittane kan nå drikkevasskjeldene mellom anna ved utslepp av ureinsa eller reinsa kloakk og ved avrenning frå beiteområde eller jordbruksareal der det er spreidd husdyrgjødsel.

Bakgrunn for prosjektet

Ein stor del av den norske drikkevassforsyninga er basert på overflatevatn, og mange av drikkevasskjeldene har beitande husdyr og husdyrhald i sine nedbørsområde. Tilhøva ligg dermed til rette for at *Cryptosporidium* og *Giardia* skal kunna førekoma i norske vasskjelder og vera årsak til utbrot av tarm sjukdom. Den norske "Forskrift om vannforsyning og drikkevann m.m." av 1995 krev dessutan at drikkevatnet ikkje skal innehalda sjukdomsframkallande parasittar, men då forskrifta blei innført, var det ingen her i landet som var i stand til å undersøkje vassprøvar for parasittar på ein adekvat måte. Sidan Seksjon for parasittologi hadde ei viss røynsle med dei aktuelle parasittane frå husdyr, fekk vi i 1994-95 sterke oppmodingar frå Kari Ormerod, Folkehelsa, om å engasjera oss i arbeidet med parasittar i drikkevatt. Også frå enkelte vassverk fekk vi førespurnader om å undersøkje vassprøvar for parasittar. Dette førte til at Seksjon for parasittologi i august 1995 søkte Noregs forskingsråd om pengar til eit 3-årig prosjekt innanfor forskingsprogrammet "Drikkevannsforskning mot år 2000". Prosjektet hadde tittelen "*Cryptosporidium* og *Giardia* i drikkevasskjelder i Noreg". I søknaden påpeikte vi at det var store sjansar for at *Cryptosporidium* og *Giardia* kunne føra til vassborne sjukdomsutbrot i Noreg, og at vi mangla nasjonal kompetanse til å undersøkje norsk drikkevatt for desse parasittane. Søknaden blei avslått.

Etter dette avslaget blei prosjektplan-

ane lagde på is inntil vidare. Men mot slutten av 1997 inviterte Statens næringsmiddeltilsyn (SNT) Noregs veterinærhøgskule (NVH) til å søkja om pengar til såkalla "forvaltningsrelatert forskning på matvarekvalitet og forbrukertrygghet", som SNT hadde fått løyvingar frå Landbruksdepartementet til å gjennomføra. Seksjon for parasittologi omarbeidde då den tidlegare søknaden og søkte om eitt toårig prosjekt under same tittel som tidlegare. Denne søknaden vann delvis fram, og vi fekk i april 1998 tildelt 400.000 kroner av SNT til eit eittårig prosjekt. Prosjektet starta deretter opp i mai i år med denne forfattaren som prosjektlei-iar. I juni blei Lucy Robertson tilsett som forskar i 60% stilling for å etablere metodikken på laboratoriet og undersøkje vassprøvar for *Cryptosporidium* og *Giardia*. Robertson har omfattande røynsle med tilsvarande arbeid frå Skottland, slik det vil gå fram av artikkelen hennar i dette nummeret av Vann.

Mål og metodar

Hovudmålsetjinga med prosjektet er å kartleggja førekomsten av *Cryptosporidium* og *Giardia* i norske drikkevasskjelder. SNT ynskte at vi tok i bruk analysemetodar som også kunne vera eigna til bruk ved lokale næringsmiddelaboratorium. SNT ynskte dessutan at vi undersøkte overlevinga av parasittane ved ulike former for handsaming av drikkevatt. Prosjektet skal etter planen vera avslutta med rapport til SNT innan 1/2-99.

På grunn av den relativt korte tidsramma, har vi konsentrert oss om dei

to førstnemnde måla ovanfor, nemleg etablering av "enkel" metodikk og undersøking av så mange vassprøvar som tid og budsjett tilliet. I løpet av juni månad kom nødvendig utstyr på plass og metodikken blei utprøvd. Frå slutten av juni til oktober har vi kontinuerleg undersøkt prøvar frå ulike vasskjelder. Til utveljinga av aktuelle vasskjelder har vi fått verdifull hjelp av Vidar Lund, Folkehelsa, som har stilt data frå Vannverksregisteret til vår disposisjon.

Vi har valt ein metodikk basert på "Method 1622: *Cryptosporidium* in water by filtration/IMS/FA and viability by DAPI/PI. May 1997 Draft" frå det amerikanske Environmental Protection Agency. Vi nyttar membranfiltrering for å konsentrera parasittar og anna partikulært materiale frå vatnet, etterfølgd av immunomagnetisk separasjon (IMS) med Dynals magnetiske kuler for å separera eventuelle *Cryptosporidium*-oocyster og *Giardia*-cyster frå dei andre partiklane i konsentratet. Til slutt blir parasittane identifiserte ved hjelp av immunofluorescensmikroskop.

Undersøkinga omfattar berre prøvar av råvatn, og volumet av kvar prøve er 10 liter. Prøvar av råvatn blir fylte på 10 liters plastkaner frå råvasskrana eller tilsvarande i vassverka. Ved kvart prøveuttak tek vi ein eller to 10-liters prøvar. Frå to større vassverk har vi teke 1-2 prøvar kvar veke over ein periode på 2-3 månader, men frå dei fleste undersøkte vassverka har vi berre teke 1-2 prøvar. Vi hentar anten prøvane sjølve, eller får dei tilsendt.

På laboratoriet blir kvar vassprøve membranfiltrert (filterdiameter 142 mm) ved hjelp av ei peristaltisk pumpe. Oppsamla materiale på filteret blir vaska av og konsentrert att ved sentrifugering. Konsentratet blir så blanda med buffer tilsett magnetiske kuler kopla til antistoff mot respektive *Cryptosporidium*-oocyster og *Giardia*-cyster (Dynabeads® anti-Cryptosporidium og Dynabeads® anti-Giardia) i eit spesielt glasrøyr. Røyrret med denne blandinga i blir så plassert i ein magnet, og kulene saman med eventuelle parasittar festar seg til den delen av glasrøyrret som er i kontakt med magneten. Væska i røyrret blir slått av, røyrret blir fjerna frå magneten og dei frie kulene vaska ut og overførte til eit mikrosentrifugerøyr. Etter sentrifugering og fjerning av supernatanten blir sentrifugerøyrret plassert i ein ny magnet. Bindinga mellom parasittane og antistoffa på dei magnetiske kulene blir oppheva ved tilsetjing av syre og kulene blir fjerna ved hjelp av magneten. Væska med eventuelle parasittar i blir så overført til spesielle objektglas og tilsett fluorescerande antistoff mot *Cryptosporidium* og *Giardia* og vitalfargestoff (DAPI). Til slutt blir objektglasa undersøkt ved hjelp av fluorescensmikroskop og eventuelle parasittar identifiserte.

Ved utgangen av oktober 1998 har ein undersøkt vel 70 prøvar av råvatn frå 23 ulike vassverk/vasskjelder, vesentleg frå Sør-Noreg. Dei undersøkte vasskjeldene er av ulik type, og omfattar små og store vatn (dei fleste) og elvar. I nedbørsområda til enkelte av kjeldene er det ein god del jordbruksaktivitet og/

eller mange beitande husdyr; ved andre kjelder er det lite av dette, men stor menneskeleg aktivitet i form av friluftsliv. Ei av kjeldene får tilført avløpsvatn frå kloakkreinseanlegg. Når prosjektet er avslutta, vil resultatene bli offentleggjorde i ein rapport til SNT og i artiklar i vitenskaplege tidsskrift. På noverande tidspunkt vil vi berre konstatere at både *Cryptosporidium* og *Giardia* er påvist i råvatnet frå somme av dei undersøkte drikkevasskjeldene. *Cryptosporidium* er hittil påvist i fleire prøvar enn *Giardia*. I dei positive prøvane har det vore ein låg konsentrasjon av parasittane.

Vidare planar

Som nemnt skal det pågåande prosjektet vera avslutta ved utgangen av januar 1999. Vi vonar at resultatene våre då vil kunna gje oss eit visst inntrykk av førekomsten av *Cryptosporidium* og *Giardia* i norske drikkevasskjelder og ein indikasjon på om visse typar av vasskjelder er meir utsette for desse parasittane enn andre typar. Men for å få eit endå sikrere bilete av situasjonen her i landet, er det naudsynt å undersøkje fleire vasskjelder enn det vi har tid og kapasitet til i det pågåande prosjektet. Det er også av interesse å få undersøkt om det er årstidsvariasjonar i førekomsten av *Cryptosporidium* og *Giardia* i vasskjeldene, og i kva grad

vassborne parasittar faktisk framkallar sjukdom hos menneske her i landet. Vidare er det vesentleg å få avklara kvar parasittane i vatnet kjem frå; om det er frå beitande husdyr i innmark og utmark, frå ville dyr, frå husdyrgjødsel på jordbruksareal, eller frå menneske. Først når ein har fått kunnskap om dette, kan ein setja inn målretta tiltak for å redusera kontamineringa av vasskjeldene med parasittar. Seksjon for parasittologi, NVH, vil gjerne arbeida vidare med desse problemstillingane dersom midlar blir stilte til disposisjon for dette. Vi ønskjer også å ta vare på den kompetanse vi har skaffa oss når det gjeld undersøking av vassprøvar for parasittar, slik at vi kan tilby slike undersøkingar for vassverk og andre interesserte. Eit vidare sterkt engasjement frå vår side når det gjeld parasittar i drikkevatt er altså i stor grad avhengig av eksternt finansiering. Det er difor gledeleg at SNT i skrivande stund synest å vilja finansiera ei vidareføring av prosjektet i 1999.

Referansar

Gjerde, B. 1998. Vassborne parasittar. Norsk Veterinærtidsskrift 110: 597-605.
Robertson, L. 1998. *Giardia* and *Cryptosporidium* in water; some work from UK and its potential relevance to Norway. Vann 33 (4).